

Rima Parwati: Diet bubuk cangkang anadara granosa dan susu kedelai meningkatkan kekerasan permukaan gigi

jurnal
material
kedokteran gigi
ISSN 2302-5271

Diet bubuk cangkang *Anadara granosa* dan susu kedelai meningkatkan kekerasan permukaan gigi

Rima Parwati Sari

Bagian Oral Biology Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

Syamsulina Revianti

Bagian Oral Biology Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

Puguh Bayu Prabowo

Bagian Material Kedokteran gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

Abstrak

Gigi tikus selalu tumbuh, tetapi untuk proses *remodeling* tersebut dibutuhkan beberapa mineral dan protein untuk dapat sampai ke enamel dan dentin agar menjadi keras. Cangkang *Anadara granosa* mempunyai banyak kandungan mineral, yaitu kalsium merupakan unsur yang paling banyak ditemukan. Mineral ini berperan penting pada proses mineralisasi gigi. Namun, agar dapat diabsorpsi dengan baik dibutuhkan asam amino sebagai pengikat untuk transport kalsium. Hal ini dapat ditemukan pada susu kedelai. Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan bahwa diet bubuk cangkang *Anadara granosa* dan susu kedelai meningkatkan kekerasan permukaan gigi tikus. Metode yang dilakukan dengan 28 ekor tikus dibagi dalam 4 kelompok. Kelompok 1 yang diberi air saja, kelompok 2 diberi bubuk cangkang *Anadara granosa* 0,1368 mg/grBB, kelompok 3 diberi susu kedelai 0,015 ml/grBB, kelompok 4 diberi bubuk cangkang *Anadara granosa* 0,1368 mg/grBB dan susu kedelai 0,015 ml/grBB. Pada hari ke-12 sampel dipotong giginya kemudian dilakukan pengukuran dengan *microhardness vickers*. Semua data ditabulasi dan dianalisis dengan ANOVA dan LSD ($p=0,05$). Penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p<0,05$) antara kelompok 2 dan 4 dengan kelompok 1, sehingga dapat disimpulkan Pemberian

Korespondensi:

Rima Parwati Sari

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah

Jln. Arief Rakhman Hakim
No.150, Sukolilo, Surabaya,
Telp.031-5945964,5945894, Fax.
5946261.

Email: rima.sari@yahoo.com

kombinasi bubuk cangkang *Anadara granosa* dan susu kedelai dapat meningkatkan kekerasan permukaan pada gigi tikus.

Kata kunci: mineralisasi gigi, uji kekerasan, susu kedelai, *Anadara granosa*

Diet anadara granosa cockle shell powder and soya milk increased surface hardness wistar teeth

Abstract

Wistar teeth always be growth, but to remodeling needed some minerals and protein to accelerate enamel and dentin to be hardness. Anadara granosa cockle shell showed that it contains a lot of minerals, majority calcium that is important to mineralized of teeth. In the absorption of calcium need amino acid as protein-binding transporter that found in soya milk. The aim of this study was to proved diet combination Anadara granosa cockle shell powder and soya milk increased surface hardness wistar teeth. Twenty eight (28) wistar rats were divided four groups. 1st group was given aquadest, 2nd (Anadara granosa cockle shell powder 0,1368 mg/grBB), 3rd (soya milk 0,015 ml/grBB), 4th (Anadara granosa cockle shell powder 0,1368 mg/grBB and soya milk 0,015 ml/grBB). On 12nd day tooth incisors sample was extracted and done measurement by microhardness vickers. All of datas in this study were analyzed by ANOVA and LSD ($p=0,05$). This study showed that there was significant difference ($p>0.05$) between 2nd and 4th group with 1st and 3rd groups so it can be cancluded that the use of diet combination Anadara granosa cockles shell powder and soya milk can increased surface hardness of wistar teeth.

Key words: teeth mineralized, surface hardness, soya milk, *Anadara granosa*

Pendahuluan

Gigi merupakan suatu jaringan yang menyerupai tulang, baik dalam komposisi, asal embriologi, sifat kimia maupun sifat fisiknya. Garam gigi, seperti juga pada tulang, mengandung hidroksiapatit yang bergabung dengan karbonat yang telah diabsorpsi dan

berbagai ikatan ionik bersama-sama dengan bahan kristal yang keras. Tulang dan gigi terdiri atas matriks organik yang diperkuat oleh endapan garam kalsium, sebagai komposisi utama bahan anorganik.¹

Pertumbuhan gigi banyak dipengaruhi oleh berbagai faktor salah satunya adalah kalsium. Kalsium merupakan salah satu

komponen biologis yang penting.² Unsur ini merupakan mineral terbanyak dari seluruh mineral yang terdapat dalam tubuh manusia, jumlahnya, kira-kira 1,5% - 2% berat badan. Jumlah yang terbanyak (\pm 99%) didapatkan dalam gigi dan tulang.³ Kalsium sangat penting untuk pembentukan, pemeliharaan gigi, mineralisasi, pertumbuhan tulang yang sehat, serta dalam keadaan patologis seperti fraktur tulang. Fungsi lain kalsium adalah mengisi kepadatan atau densitas tulang sehingga dapat membuat tulang menjadi kuat dan gigi menjadi keras sehingga tidak mudah menjadi karies.⁴

Sebagai salah satu komponen mineral inorganik pembentuk gigi, kalsium yang utamanya berbentuk garam kalsium fosfat ditemukan sebagai salah satu komposisi pembentuk kalsium hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.² Deposit kalsium sangat penting untuk pembentukan gigi yang ditunjukkan oleh peran odontoblas pada pembentukan dentin dan ameloblas pada pembentukan enamel. Ion kalsium (Ca^{2+}) ditransportasikan masuk ke dalam gigi melalui jalur transeluler yang ditujukan untuk menjaga homeostatis kalsium pada odontoblas dan ameloblas.⁵

Pada tahap permulaan mineralisasi terjadi proses ion nukleasi yaitu ion kalsium yang dilakukan oleh odontoblas. Sebagian besar ion Ca^{2+} ditranspor terus menerus ke sebuah jalur seluler dibawah kontrol odontoblas. Odontoblas mempertahankan keseimbangan ion Ca^{2+} , melalui mekanisme transpor. Pada jalur transeluler ini dibutuhkan ATPase yang berfungsi mengaktifkan Ca^{2+} , *calcium channels*, *intracellular calcium binding proteins*, dan pertukaran $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, serta berikatan dengan *epinephrine*. Proteoglikan yang berperan sebagai mineral nukleor menginduksi pembentukan apatit dengan berikatan pada permukaan serat kolagen dan sisi lainnya berikatan dengan ion kalsium proses ini disebut dengan *mineral depotition*.⁵ Hal yang sama juga

terjadi proses mineralisasi pada enamel. Pada akhirnya kekerasan gigi tergantung dari pertumbuhan menyamping (lebar) dan tebal garis enamel (*enamel ribbons*), akibat kristal yang berdekatan satu sama lain menjadi kontak dan berpaut.⁶

Enamel memegang peranan utama dalam pencegahan penyakit seperti karies, karena sifat fisik dan kimia enamel menentukan kekerasan dan ketahanan gigi dalam menghadapi intervensi dari luar. Walaupun tulang, dentin dan sementum sama-sama termineralisasi dengan hidroksiapatit, akan tetapi terdapat dua perbedaan penting antara enamel dan jaringan lain. Pertama, tulang, dentin dan sementum terdiri dari 20% kolagen sedang enamel hanya 0.6%. Kedua, kristal apatit di enamel adalah kira-kira sepuluh kali lebih besar dan lebih tebal daripada yang dikalsifikasi kolagen sehingga volume kristal di enamel setidaknya 1000 kali lebih besar. Akan tetapi, enamel tidak mempunyai kemampuan untuk menggantikan bagian-bagiannya yang rusak. Enamel merupakan suatu unsur *bradytrophes* yaitu jaringan yang paling sedikit sekali mendapat makanan. Dalam penyelidikan yang dilakukan dengan menggunakan mikroskop elektron, juga tidak dijumpai adanya saluran makanan pada enamel sehingga berakibat kecacatan pada enamel.⁷

Hal tersebut di atas menunjukkan betapa penting peranan kalsium untuk tulang dan gigi. Asupan kalsium ke dalam tubuh tidak lepas dari peran protein yang berfungsi mengikat kalsium. Sebuah fungsi penting yang potensial pada protein enamel adalah untuk memastikan keselarasan mineral-mineral yang disimpan pada ujung *enamel ribbons* dalam siklus sebelumnya, sehingga mempertahankan kandungan kristal pada setiap siklus.⁶

Kebutuhan susu ini sangatlah penting, namun di negara berkembang, seperti Indonesia masih jauh lebih rendah dibanding negara maju. Masyarakat

Indonesia mengkonsumsi susu sapi dalam satu minggu setiap orang hanya sekitar 0,5 gelas. Masyarakat Indonesia masih memiliki daya beli susu yang rendah sehingga terkadang masyarakat menjadikan faktor ekonomi dan gaya hidup sebagai alasan tidak mengkonsumsi susu.⁸ Susu sapi yang identik sebagai salah satu pemenuh asupan kalsium tersebut juga dijadikan alasan seseorang untuk tidak mengkonsumsi karena adanya faktor laktosa intoleran pada protein hewani.⁹ Alasan-alasan tersebut di atas mengakibatkan peningkatan insiden defisiensi kalsium meningkat.⁸

Salah satu asupan alternatif tersebut adalah dengan menggunakan susu kedelai. Susu kedelai merupakan minuman yang bergizi tinggi, terutama karena kandungan proteinnya. Selain itu susu kedelai juga mengandung lemak, karbohidrat, kalsium, phosphor, zat besi, provitamin A, Vitamin B kompleks (kecuali B12), dan air. Perhatian masyarakat kita terhadap jenis minuman ini pada umumnya masih kurang. Susu kedelai ini harganya lebih murah dari pada susu produk hewani dan mudah didapat.⁸ Kelemahan utama dari susu kedelai adalah kurangnya kandungan kalsium, hanya sekitar seperempat dari kalsium yang dikandung susu sapi.⁹

Berdasarkan hal tersebut di atas perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan bahwa mengkonsumsi bubuk cangkang *Anadara granosa* dan susu kedelai dapat meningkatkan kekerasan permukaan gigi tikus. Dalam penelitian ini dimana menggunakan tikus wistar yang berbeda dengan pertumbuhan gigi manusia. Gigi tikus semasa hidupnya selalu membutuhkan kalsium karena gigi tikus yang terus tumbuh memanjang.⁶

Metode penelitian

Jenis penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris dengan menggunakan

rancangan penelitian *post test only completed design*. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Biokimia Universitas Hang Tuah dan laboratorium Metalurgi Teknik Industri Institut Teknologi 10 Nopember Surabaya, penelitian dilakukan pada bulan Juni 2012. Sampel penelitian sebanyak 28 yang terbagi dalam 4 kelompok secara *random*. Kriteria sampel yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus Novergicus*) jantan galur Wistar berusia sekitar 1 bulan, berat badan 50-80 gram dan sehat fisik.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah alat pembedahan tikus untuk mengambil bahan uji (Scalpel, pinset, gunting, solder, kapas), oven, mortar dan pestle dari kuningan, pemanas listrik, *syringe 3cc*, *feeding-tube*, gelas ukuran 100 ml, pipet 10 ml dan 50 ml, labu takar 100 ml, blender, ayakan bertingkat, mesin pengayak, tabung reaksi dan pengaduk, serta alat *mikro vickers hardness tester merk Wilson Hardness*. Bahan penelitian yang dipakai adalah eter, kulit *anadara granosa*, kacang kedelai, NaOH, *dekstrin*, dedak, tepung terigu, gula pasir dan garam, *aquadest*.

Bubuk *Anadara granosa cockle shell* dibuat dengan modifikasi metode Sada (1984), yaitu dengan cara cangkang yang telah dipisah dari dagingnya dibersihkan, kemudian dikeringkan dengan panas matahari selama 6-8 jam. Setelah kering kulit direbus dalam NaOH 1N pada suhu 50°C selama 3 jam. Kemudian dinetralisasi dengan pencucian. Selanjutnya cangkang dikeringkan dalam oven pada suhu 121 derajat celcius selama 15 menit dan dihaluskan dengan mortar dan pestle dari kuningan dan dengan blender. cangkang yang sudah halus dilakukan pengayakan menggunakan ayakan bertingkat dan mesin pengayak.¹⁰

Pembuatan susu kedelai, dimulai dengan membersihkan kedelai dari segala segala kotoran. Kemudian dilakukan perebusan selama kira-kira 15 menit, lalu

direndam dalam air bersih selama kira-kira 12 jam. Selanjutnya dicuci sampai kulit arinya terkelupas dan di-blender. Kedelai yang sudah halus dicampur dengan air panas dan diaduk sampai tercampur rata. Campuran tersebut disaring dengan kain, sehingga diperoleh larutan susu kedelai. Tahap akhir adalah menambahkan gula pasir, dan garam ke dalam larutan susu dan direbus hingga mendidih.¹¹

Prosedur penelitian dimulai dengan aklimatisasi hewan coba selama 7 hari dalam lingkungan laboratorium. Sebelum diberi perlakuan, tikus putih dipuasakan kurang lebih 18 jam tetapi masih tetap diberikan air minum. Bila ada yang sakit dikeluarkan dari penelitian. Tikus putih dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok 1, yang merupakan kelompok kontrol yang diberi air, kelompok 2, yaitu kelompok perlakuan yang diberi bubuk cangkang *Anadara granosa* dosis 0,1368 mg/grBB, kelompok 3, yaitu kelompok perlakuan yang diberi susu kedelai 0,015 ml/grBB, dan kelompok 4, yaitu kelompok perlakuan yang diberi bubuk cangkang *Anadara granosa* 0,1368 mg/grBB dan susu kedelai 0,015 ml/grBB. Semua kelompok diberi perlakuan yang sama. Setiap tikus dibius dengan menggunakan eter, setelah tikus terbius dilakukan pemotongan pada gigi insisif kiri yang sudah diberi tanda pada ujung apikalnya/batas pemotongannya. Gigi insisif kanan tidak dipotong karena digunakan sebagai kontrol hingga gigi insisif kiri tumbuh setinggi gigi insisif kanan. Tikus dikembalikan ke kandang untuk diobservasi selama 11 hari untuk diberi pakan dan perlakuan pada setiap kelompoknya.

Cara pemberian pakan standar tikus sama seperti pada umumnya, tetapi pemberian minumannya berbeda karena jenis asupan cairannya tidak sama di setiap kelompok. Agar banyaknya asupan terkontrol secara merata disemua tikus, maka cara pemberian minumannya secara oral menggunakan *syringe* yang dihubungkan

dengan *feeding-tube* dengan dosis yang sama di semua tikus percobaan selama 7 hari.

Pada hari ke-12, gigi insisif tikus dipotong dan ditanam dalam balok gips dengan ukuran 2 × 3 cm. Permukaan bagian bukal menghadap ke atas bagian tengah balok gips diberi tanda dengan garis guratan, kemudian dilakukan pengukuran kekerasan permukaan dengan cara sebagai berikut: balok gips dijepit dengan permukaan gigi menghadap ke atas kemudian dijepit dengan alat penjepit pada meja alat *Mikro Vickers Hardness Tester*.

Selanjutnya sampel diatur supaya tepat di tengah lensa objektif dan difokuskan dengan cara memutar pegangan yang ada pada kanan alat, searah dengan jarum jam, setelah pada lensa okuler terlihat gambar dalam keadaan fokus, sampel dipindah dengan cara menggeser ke arah kanan sehingga tepat berada di bawah *diamond penetrator*, lalu tombol *penetrator* ditekan, *diamond penetrator* akan turun, ini ditandai lampu hijau akan menyala, bila *diamond penetrator* telah menyentuh sampel, maka lampu merah akan menyala. Setelah 30 detik *diamond penetrator* akan naik, lalu ditunggu sampai lampu merah dan hijau padam. Sampel digeser kembali ke tempat lensa okuler dan difokuskan lagi, maka akan terlihat gambar bentukan belah ketupat, kemudian panjang diagonalnya diukur langsung dengan mikrometer yang ada pada lensa okuler. Hasil pengukuran panjang diagonal kemudian diambil rata-ratanya (d) dimasukkan ke dalam rumus¹²:

$$NVH = \frac{1,854 \times P}{d^2}$$

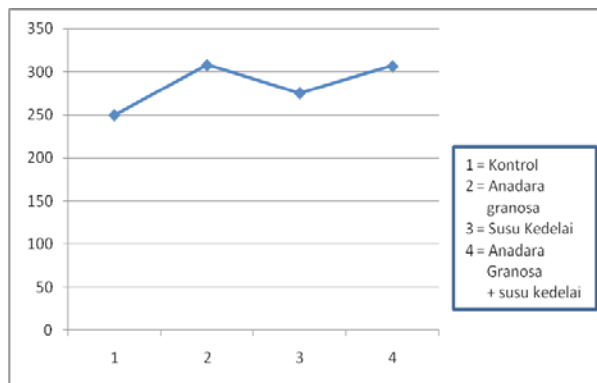
Keterangan:

NVH = kekerasan sampel (kg/mm²)

P = berat beban (100 gram)

d = panjang diagonal (1/1000 mm)

Melalui perhitungan akan didapatkan nilai kekerasan permukaan sampel, dan hal di atas dilakukan untuk semua kelompok dan dilakukan pencatatan. Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan kadar serum trigliserida pada masing-masing kelompok ditabulasi. Kemudian dilakukan perhitungan statistik dengan uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk uji kemaknaan pada masing-masing kelompok.



Gambar 1. Rerata Kekerasan Permukaan Setelah Konsumsi, *Anadara Granosa* Dan Susu Kedelai.

Tabel 1. Hasil Uji LSD

| Dependent Variable | Kelompok Perlakuan | 2 (Ag) | 3 (SK) | 4 (Ag+SK) |
|---------------------|--------------------|--------|--------|-----------|
| Kekerasan permukaan | 1 (K) | 0,037* | 0,610 | 0,019* |
| | 2 (Ag) | - | 0,491 | 0,998 |
| | 3 (SK) | - | - | 0,326 |

Ket : *berbeda bermakna

kedelai), sedangkan pada kelompok 3 dan kelompok yang lain tidak ditemukan adanya perbedaan bermakna ($p > 0,05$)

Pembahasan

Tikus merupakan mamalia jenis *rodent* yang memiliki metabolisme menyerupai manusia dan sering digunakan dalam berbagai penelitian termasuk pertumbuhan tulang sehingga lebih banyak memberikan informasi kepada kita tentang diet yang mempengaruhi pembentukan tulang. Tidak seperti manusia, gigi tikus mempunyai sifat yang selalu tumbuh walaupun terjadi fraktur

Hasil Penelitian

Hasil pengukuran rerata dan simpang baku kekerasan permukaan sampel setelah konsumsi bubuk cangkang *Anadara granosa*, susu kedelai dan kombinasi keduanya selama 7 hari dapat dilihat pada tabel 1.

Sebelum dilakukan analisis dilakukan uji homogenitas varians, ternyata data yang diperoleh merupakan data yang variansnya homogen dan berdistribusi normal, maka dilakukan uji analisis statistik berikutnya.

Hasil perhitungan ANOVA satu arah didapatkan hasil adanya perbedaan bermakna ($p = 0,00$) kekerasan permukaan gigi setelah konsumsi bubuk cangkang *Anadara granosa*, susu kedelai dan kombinasi keduanya. Untuk mengetahui perbedaan antara kelompok digunakan uji tukey *HSD*.

Pada tabel 1 menunjukkan ada perbedaan bermakna ($p < 0,05$) kelompok 1 antara (konsumsi standar) dengan kelompok 2 (konsumsi *Anadara granosa*) dan kelompok 4 (kombinasi *Anadara granosa* dan susu

pada gigi.⁶ Inilah yang mendasari penelitian ini untuk melihat peran mineralisasi pada gigi terhadap kekerasan permukaan gigi.

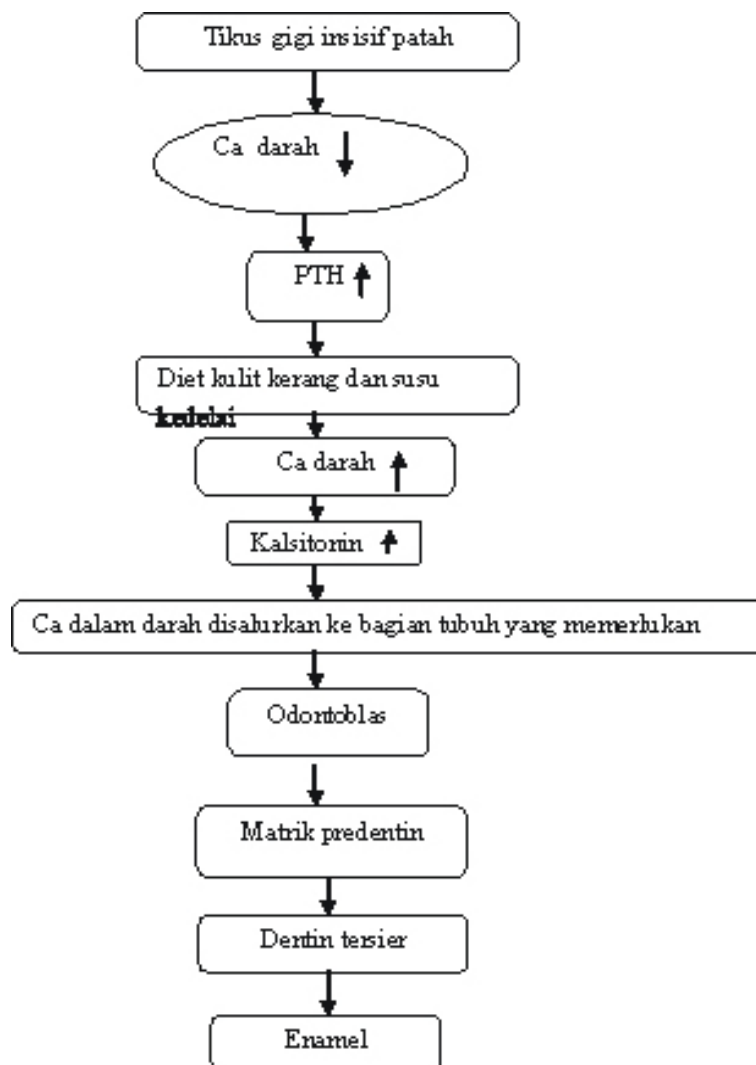
Pada proses mineralisasi tulang dan gigi, banyak nutrisi yang diperlukan diantaranya hormon, kalsium, fosfor, protein, vitamin. Kalsium dan fosfor sangat berperan untuk proses mineralisasi. Kalsium sendiri tanpa protein sangat susah untuk diserap di usus halus, karena itu kalsium dan protein tidak dapat dipisahkan.¹³ Selain fungsi tersebut protein berperan dalam membantu proses penyerapan kalsium dan fosfor serta memperkuat struktur matriks tulang (mencegah osteoporosis).¹⁴

Salah satu biota laut yang mempunyai kandungan kalsium tinggi adalah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*).¹⁵ Cangkang *Anadara granosa* tersusun dari kristal – kristal kapur yang berbentuk prisma dan lapisan kalsit yang terdiri dari garam karbonat.¹⁶ Cangkang ini merupakan limbah yang banyak dibuang setelah diambil dagingnya. Pemanfaatan limbah tersebut dipakai sebagai bahan yang kaya akan kalsium dan diberikan bersama susu kedelai yang relatif lebih murah dan tidak menyebabkan alergi protein hewani atau yang menderita *lactose intoleran*, serta dapat dibuat sendiri.¹⁴

Pada hasil penelitian terlihat bahwa pemberian *Anadara granosa* dan susu

kedelai mempunyai kekerasan permukaan yang paling efektif terhadap kekerasan permukaan gigi. Mineralisasi pada pemberian kelompok 4 tersebut terjadi sesaat setelah dilakukan pemotongan pada gigi tikus. Gigi tikus mengalami pertumbuhan yang terlihat sejak hari pertama sampai ke-5.

Tubuh tikus memerlukan kalsium dan mekanisme penyerapan kalsium ke dalam tubuh diatur oleh hormon-hormon didalam tubuh, saat tubuh membutuhkan kalsium kelenjar parathyroid akan melepaskan hormone PTH yang menyebabkan meningkatnya penyerapan kalsium di dalam usus halus, meningkatkan reabsorpsi kalsium didalam ginjal dan meningkatkan kalsium



Gambar 2. Skema sederhana pengaruh pemberian kulit kerang dan susu kedelai terhadap pertumbuhan gigi¹⁶

dilepaskan ke dari tulang, semua kalsium akan terkumpul didalam darah dan menyebabkan serum kalsium di dalam darah meningkat kemudian disalurkan kalsium ke tempat yang membutuhkan termasuk pada kondisi dimana gigi memerlukan untuk mineralisasi.⁵

Pemberian cangkang *Anadara granosa* dan susu kedelai mengakibatkan kadar kalsium dalam darah tinggi dan merangsang ekskresi kalsitonin. Kalsitonin berperan dalam meningkatkan aktifitas odontoblas dan ameloblas. Sel-sel ini berperan dalam pembentukan komposisi matrik baru sehingga terjadi pembentukan matrix predentin. Matrix predentin nantinya akan membentuk dentin sekunder. Begitu pula dengan peran ameloblas terhadap pembentukan enamel.¹⁷ Berikut adalah diagram sederhana pengaruh pemberian kulit kerang dan susu kedelai terhadap pertumbuhan gigi tikus *Wistar*.

Peran penting dari protein enamel memastikan keselarasan mineral secara terus menerus dimana mineral yang disimpan ujung enamel pada mineralisasi sebelumnya, menyebabkan kristalit bertahan pada setiap siklus. Pengerasan enamel dalam proses pematangan melibatkan deposisi mineral ke sisi kristalit sampai nantinya saling mengunci satu sama lain antara kristal hidroksi apatit yang berdekatan.⁶

Daftar Pustaka

1. Khoswanto C, Soehardjo I. Pengaruh peningkatan konsentrasi sukrosa dalam diet terhadap kadar kalsium gigi tikus wistar. *Maj Ked Gigi (Dent J)* 2005 Januari;38(1):4-7.
2. Nanci A. *Oral Histology: Development, Structure, and Function*. Canada: Mosby Elsevier; 2008. h. 141-91.
3. Wirakusumah ES. *Mencegah Osteoporosis*. Jakarta: Penebar plus; 2008. h. 33-7.
4. Nieves JW. Osteoporosis: The Role of Micronutrients. *Am J Clinal Nutrition* 2005 Mei;81(5):1232S-9S.
5. Palosaari H. Matrix metallo proteinases (MMPs) and their specific tissue inhibitors (TIMPs) in mature human odontoblasts and pulp tissue the regulator of expressions of fibrillar collagens, MMPs and TIMPs by growth factors, transforming growth factor (TGF- β 1) and bone morphogenetic protein-2 (BMP-2). *Faculty of Medicine Institute of Dentistry Universitas of Oulu*. 2003. h. 20-2.
6. Simmer JP, Papagerakis P, Smith CE, Fisher DC, Rountrey AN, Zheng L, Hu JC-C. Regulation of dental enamel. Shape and Hardness *J Dent Res* 2010;89(10):1024-38.
7. Puspitawati R, Gunawan HA, Suniarti DF, Yunita A. Pengaruh musik terhadap penurunan kadar mineral permukaan enamel pada kondisi defisiensi protein. *Makara Kesehatan* 2008 Juni;12(1):1-7.
8. Jarmani, Nastiti S. peranan perempuan dalam mengatasi kemiskinan dan meningkatkan kualitas konsumsi gizi keluarga melalui budidaya ayam kampung di daerah urban dan pedesaan. *Lokakarya Inovasi Teknologi Pengembangan Ayam Lokal*. 2005. h. 294-7.
9. Egayanti Y. Editorial: kenali intoleransi laktosa lebih lanjut. *Infopom* 2008 Jan;9(1):1-3.
10. Wahyuni M. Kerupuk tinggi kalsium: Nilai Tambah limbah cangkang kerang hijau melalui aplikasi teknologi tepat guna. 2007. [diakses 2008 Nov 17]. Tersedia pada: <http://www.dkp.go.id/content.php>.
11. Radiyati T. *Pengolahan kedelai*. Subang: BPTTG Puslitbang Fisika Terapan-LIPI, 1992. h. 1-14.
12. Prasetyo EA. Keasaman minuman ringan menurunkan kekerasan permukaan gigi. *Maj Ked Gigi (Dent J)* 2005 April-Juni;38(2):60-3.
13. Ganong WF. *Review of medical physiology*. 22nd ed. Stamford: Appleton & Lange. 2011. h. 157-9.

Rima Parwati: Diet bubuk cangkang anadara granosa dan susu kedelai meningkatkan kekerasan permukaan gigi

14. Mudjajanto, Setyo E, Fauzi R. Kusuma. susu kedelai susu nabati yang menyehatkan. Cet 1. Jakarta: Agromedia Pustaka. 2005. h. 5-6,9-10,14,16-33,44.
15. Muhamed M, Yususp S, Maitra S. Decomposition studi of calcium carbonate cockle shell. *J Engineer Scien Technol* 2012;7(1):1-10.
16. Christofoora VMS. Perbandingan bioaktivitas diet tepung kulit kerang darah, susu kedelai dan kombinasinya terhadap pertumbuhan gigi dan warna gigi. Skripsi: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hangtuah. 2012. H. 30-1,73-9.
17. Sturdevant MS, Spear BA. Adolescent psychosocial development. *J Am Diet Assoc* 2002;102(3 Suppl):S30-1.